

|           |   |              |
|-----------|---|--------------|
| 氏 名       | 堀 耕太郎   |              |
| 学 位 の 種 類 | 博士 ( 医学 )   |              |
| 学 位 記 番 号 | 第 6026 号  |              |
| 学位授与年月日   | 平成 26 年 3 月 24 日  |              |
| 学位授与の要件   | 学位規則第 4 条第 1 項  |              |
| 学 位 論 文 名 | <b>The Effect of Lipid Emulsion on Intracellular Bupivacaine as a Mechanism of Lipid Resuscitation<br/>: An Electrophysiological Study Using Voltage-gated Proton Channels<br/>(リピッド蘇生のメカニズムにおける脂肪乳剤の細胞内ブピバカインへの効果: プロトンチャネルを用いた電気生理学的検討)</b> |              |
| 論文審査委員    | 主 査 西川 精宣 教授  | 副 査 三浦 克之 教授 |
|           | 副 査 稲葉 雅章 教授  |              |

## 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】局所麻酔薬中毒に対する脂肪乳剤の使用は非常に有用とされるが、そのメカニズムは未解明の部分も多い。脂溶性の高い局所麻酔薬が脂肪乳剤に取り込まれるという、“partitioning effect”はその有力なメカニズムの一つだが、細胞内における検討は困難とされてきた。プロトンチャネルはその逆転電位から細胞内 pH を計算できるため、細胞内局所麻酔薬濃度の推定が可能である。今回我々はこの性質を用い、細胞内ブピバカインへの脂肪乳剤の効果に関して検討した。

【方法】ラットミクログリア cell line (GMI-R1) に対しホールセル・パッチクランプ法を用い、ブピバカインのプロトン電流抑制に対する脂肪乳剤の効果について調べた。脂肪乳剤は 20% イントラリピッド®を用い、外液と混合した最終脂肪乳剤濃度を%で表記した。

【結果】ブピバカイン (1 mM) はプロトン電流をコントロール値の  $43 \pm 10\%$  に抑制し、逆転電位を  $-88.0 \pm 4.1$  mV から  $-76.0 \pm 5.5$  mV にシフトした ( $n = 5$ ,  $p = 0.02$ )。これに脂肪乳剤 (4%) を加えると、電流は  $79 \pm 2\%$  に回復し逆転電位は  $-86.0 \pm 7.1$  mV となった ( $n = 5$ ,  $p = 0.03$ )。また脂肪乳剤溶液を遠心して使用しても、逆転電位は  $-85.6 \pm 4.9$  mV と同程度の回復 ( $n = 5$ ,  $p = 0.9$ ) がみられた。細胞内ブピバカイン濃度は脂肪乳剤により  $18.1 \pm 3.9$  mM から  $5.4 \pm 1.8$  mM まで低下した。

【結論】我々は初めて脂肪乳剤による細胞内ブピバカインへの効果を定量評価する事ができた。脂肪乳剤は細胞内ブピバカインを大きく低下させ、その効果のほとんどが“partitioning effect”である事が分かった。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ブピバカインによる局所麻酔薬中毒の治療は困難と言われていたが、近年、脂肪乳剤の使用が非常に有用とされている。しかしながら、そのメカニズムは未解明の部分も多い。脂溶性の高い局所麻酔薬が脂肪乳剤に取り込まれるという、“partitioning effect”はその有力なメカニズムの一つだが、細胞内における検討は困難とされてきた。プロトンチャネルはその逆転電位から細胞内 pH を計算できるため、細胞内局所麻酔薬濃度の推定が可能である。本研究では、このプロトンチャネルの性質を用いて、細胞内ブピバカインに脂肪乳剤がどのような効果をもたらすかを検討した。

ラットミクログリア cell line (GMI-R1) に対しホールセル・パッチクランプ法を用い、ブピバカインのプロトン電流抑制に対する脂肪乳剤の効果について調べた。脂肪乳剤は 20% イントラリピッド®を用い、外液と混合した最終脂肪乳剤濃度を%で表記した。

その結果、ブピバカイン (1 mM) はプロトン電流をコントロール値の  $43 \pm 10\%$  に抑制し、逆

転電位を $-88.0 \pm 4.1$  mV から $-76.0 \pm 5.5$  mV にシフトした ( $n = 5$ ,  $p = 0.02$ )。

これに脂肪乳剤 (4%) を加えると、電流は  $79 \pm 2\%$  に回復し逆転電位は $-86.0 \pm 7.1$  mV となった ( $n = 5$ ,  $p = 0.03$ )。また脂肪乳剤溶液を遠心して脂肪層を除いた aqueous phase を使用しても、逆転電位は $-85.6 \pm 4.9$  mV と同程度の回復 ( $n = 5$ ,  $p = 0.9$ ) がみられた。細胞内ブピバカイン濃度は脂肪乳剤により  $18.1 \pm 3.9$  mM から  $5.4 \pm 1.8$  mM まで低下した。

これらの結果から、本研究ではミクログリア cell line において、脂肪乳剤による細胞内ブピバカインへの効果を定量評価する事が初めて可能となった。脂肪乳剤は細胞内イオン化型ブピバカイン濃度を大きく低下させ、その効果のほとんどが “partitioning effect” である事が明らかになった。

以上のことから、本研究は脂肪乳剤のミクログリアにおける脂溶性局所麻酔薬の細胞内濃度減少作用を明らかにしたものであり、博士 (医学) の学位を授与されるに値するものと判定された。